

Cosmetic and dermatological use of *Potentilla erecta* extracts - to stimulate production of type VII collagen

Patent Number : WO9819664

International patents classification : C07K-014/78 A61K-007/48 A61K-035/78 A01N-065/00 A61K-007/06 A61K-007/40 A61K-033/32 A61K-035/00 A61P-017/00 C12N-005/06

• **Abstract :**

WO9819664 A The use of an extract of *Potentilla erecta* as a cosmetic and dermatological agent is new.

Also claimed is the use of this extract to treat cultures of human keratinocyte and human fibroblast cells by stimulating the synthesis of type VII collagen

USE - The extracts have the following activities: improvement of the cohesion between the dermis and epidermis through reinforcement of the dermo-epidermic junction and to counteract the effects of such cohesion deficiency; stimulant for the formation of type VII collagen, skin firming agent to prevent or delay cutaneous ageing, the appearance of wrinkles, and the effects of solar radiation, and acts hair condition improvement agent improvement agent for skin during or after cicatrisation. (Dwg.0/0)

• **Publication data :**

Patent Family : WO9819664 A2 19980514 DW1998-25 A61K-007/48 Fre 17p * AP: 1997WO-FR01988 19971106 DSNW: JP US DSRW: AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE

FR2755367 A1 19980507 DW1998-25 A61K-007/48 AP: 1996FR-0013585 19961107

EP-946138 A2 19991006 DW1999-46 Fre FD: Based on WO9819664 AP: 1997EP-0913260 19971106; 1997WO-FR01988 19971106 DSR: DE ES FR GB IT

US6193975 B1 20010227 DW2001-14 A61K-035/78

FD: Based on WO9819664 AP: 1997WO-FR01988 19971106; 1999US-0297679 19990506

JP2001503754 W 20010321 DW2001-22 A61K-007/48 24p FD: Based on WO9819664 AP: 1997WO-FR01988 19971106; 1998JP-0521106 19971106

US6471972 B1 20021029 DW2002-74 A61K-007/48 FD: CIP of US6193975; Based on WO9962481 AP: 1999US-0297679 19990506; 1999WO-FR01261 19990528; 2000US-0701341 20001128

EP-946138 B1 20030226 DW2003-16 A61K-007/48 Fre FD: Based on WO9819664 AP: 1997EP-0913260 19971106; 1997WO-FR01988 19971106 DSR: DE ES FR GB IT

DE69719366 E 20030403 DW2003-30 A61K-007/48 FD: Based on EP-946138; Based on WO9819664 AP: 1997DE-6019366 19971106; 1997EP-0913260 19971106; 1997WO-FR01988 19971106

ES2193364 T3 20031101 DW2003-82 A61K-007/48 FD: Based on EP-946138 AP: 1997EP-0913260 19971106

Priority n° : 1996FR-0013585 19961107; 1998FR-0006822 19980529

Covered countries : 19

Publications count : 9

• **Patentee & Inventor(s) :**

Patent assignee : (LVMH-) LVMH RECH (LVMH-) LVMH RECH GRP INTERET ECONOMIQUE

Inventor(s) : BONTE F; CHAUDAGNE C; DUMAS M; MEYBECK A; HEUSELE C; LE BLAY J

• **Accession codes :**

Accession N° : 1998-286566 [25]

Related Acc. N° : 2000-105660

Sec. Acc. n° CPI : C1998-088712

• **Derwent codes :**

Manual code : CPI: B04-A08C2 B04-A10F B14-N17 B14-R01 B14-R02 B14-R05 D08-B09A

Derwent Classes : A96 B04 B05 D21

• **Update codes :**

Basic update code : 1998-25

Equiv. update code : 1998-25; 1999-46; 2001-14; 2001-22; 2002-74; 2003-16; 2003-30; 2003-82

Others :

UE4

2001-03; 2001-04; 2002-11; 2003-03; 2003-05; 2003-12

THIS PAGE BLANK (USPTO)



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 7/48, 7/06, 35/78	A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/19664 (43) Date de publication internationale: 14 mai 1998 (14.05.98)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/01988</p> <p>(22) Date de dépôt international: 6 novembre 1997 (06.11.97)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 96/13585 7 novembre 1996 (07.11.96) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LVMH RECHERCHE [FR/FR]; 25, rue des Peupliers, F-92752 Nanterre (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BONTE, Frédéric [FR/FR]; 54, rue Trudelle, F-45100 Orléans (FR). DUMAS, Marc [FR/FR]; 61 résidence le Windsor, 47 ter, avenue de la Mouillère, F-45100 Orléans (FR). CHAUDAGNE, Catherine [FR/FR]; 4, rue des Mésanges, F-45530 Vitry-aux-Loges (FR). MEYBECK, Alain [FR/FR]; Les Poissons, 20 ter, rue de Bezons, F-92400 Courbevoie (FR).</p> <p>(74) Mandataires: GIRAUD, Françoise etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75007 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i></p>
<p>(54) Title: USE OF A POTENTILLA ERECTA EXTRACT IN THE COSMETIC AND PHARMACEUTICAL FIELD</p> <p>(54) Titre: UTILISATION D'UN EXTRAIT DE POTENTILLA ERECTA DANS LE DOMAINE DE LA COSMETIQUE ET DE LA PHARMACIE</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns the use of an extract of <i>Potentilla erecta</i> in the cosmetic and pharmaceutical field, in particular in dermatology. It concerns more particularly all the applications seeking to reinforce the dermo-epidermic junction or to improve hair condition, by improving the synthesis of collagen VII by keratinocytes and/or fibroblasts. Particularly, these applications concern the strengthening of the skin, the reduction of wrinkles or hair care. The invention also concerns a novel method of cell culture, in particular of human fibroblasts or keratinocytes, for promoting the formation of collagen VII.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention concerne l'utilisation d'un extrait de la plante <i>Potentilla erecta</i> dans le domaine de la cosmétique et de la pharmacie, notamment de la dermatologie. Elle concerne plus particulièrement toutes les applications où l'on cherche à renforcer la jonction dermo-épidermique ou améliorer l'état de la chevelure, par l'amélioration de la synthèse du collagène VII par les kératinocytes et/ou les fibroblastes. En particulier, ces applications concernent le raffermissment de la peau, l'atténuation des rides ou le soin de la chevelure. L'invention concerne également un nouveau procédé de culture de cellules, en particulier de fibroblastes ou de kératinocytes humains, pour favoriser la formation de collagène VII.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

UTILISATION D'UN EXTRAIT DE POTENTILLA ERECTA DANS LE DOMAINE DE LA COSMETIQUE ET DE LA PHARMACIE

L'invention concerne une nouvelle utilisation d'un extrait de *Potentilla erecta* dans le domaine de la cosmétique ou de la pharmacie, notamment en dermatologie.

La Tormentille ou *Potentilla erecta* Raeusch ou *Potentilla tormentilla* Stokes ou Neck est utilisée traditionnellement en phytomédecine comme astringent, anti-diarrhéique ou antiallergique. Voir pour cela l'ouvrage de Bisset
10 "Herbal drugs and phytopharmaceuticals" CRC Press Ed, Boca Raton, USA, 1994, p. 499-501, ainsi que l'ouvrage intitulé : "A modern herbal" Penguin Handbooks, Harmondsworth, England, 1980, p. 819-820.

La tormentille est également une plante cultivée, en particulier en Russie centrale en particulier dans l'Oural et donc facilement accessible tel que
15 cela a été décrit par Vasfilova E.S. et Ivanova G.A. Rastit. Resur 1989, 25, 67-73.

Bos et al., dans la revue Biological and Pharmaceutical Bulletin, 1996, 19, 146-148, ont décrit récemment une activité anti-lipoperoxydante et anti-élastasique de procyanidines extraites de tormentille.

Le brevet allemand DE 3911185 décrit aussi l'utilisation d'un extrait
20 de *Potentilla erecta* contre la mauvaise haleine.

La demande de brevet japonais JP 01121221 de Daiso Co décrit l'usage d'un extrait aqueux ou organique de la même plante pour traiter le diabète, cet extrait ayant des propriétés inhibitrices de l'aldose réductase.

Une publication de Selezneva L.V., Zozulga R.N., Yakovleva T.N. dans
25 Rastit. Resur. 1973, 9, 409-414, décrit les propriétés antiinflammatoires et celles améliorant le renforcement de la paroi des capillaires sanguins d'un extrait de racines de tormentille.

D'autres travaux ont décrit l'utilisation de tannins de *Potentilla erecta* comme antiallergiques et immunostimulants (Lund et al. Deutsche Apotheker
30 Zeitung, 1985, 125, 105-108).

Par ailleurs, on sait que le collagène de type VII, ci-après désigné par collagène VII, est le constituant prédominant des fibrilles d'ancrage, associées à la membrane basale, reliant l'épiderme au derme. Il est synthétisé par les kératinocytes de la couche basale de l'épiderme, et, en quantité moindre, par les
35 fibroblastes du derme comme décrit par R.Burgeson dans une publication intitulée : "Type VII collagen, anchoring fibrils, and epidermolysis bullosa",

J. Invest. Dermatol, (1993) 101,252-255. On pourra également se reporter à la publication de A. Koenig et al., dans J. Invest. Dermatol. (1992) 99 808-812. A ce propos, on notera que, selon des études récentes, des applications topiques d'acide rétinolique augmentait le nombre de fibrilles d'ancrage sur des peaux ayant subi un vieillissement actinique (Woodley D.T. et al., J. Amer. Med. Assoc. (1990) 263, 3057-9). Or, l'acide rétinolique, ou trétinoïne, est reconnu comme étant l'un des agents anti-rides les plus performants (L.H. Kligman, Cutis (1988) 41 (6) 419-20 ; J.J. Leyden et al., J. Am. Acad. Dermatol. (1989) 21 (3Pt 2) 638-44 ; J.H. Saurat, Horm. Res. (1995) 43 (1-3) 89-92)

10 D'après la publication de Y.Q. Chen, A.Mauviel, J.Ryynanen, S.Sollberg, J.Uitto ("Type VII collagen gene expression by human skin fibroblasts and keratinocytes in culture : Influence of donor age and cytokine responses" J. Invest. Dermatol, (1994) 102, 205-209), certaines manifestations du vieillissement cutané, telles qu'une fragilité cutanée accrue et une diminution des capacités de réparation de l'épiderme, pourraient être attribuables à une diminution de la synthèse du collagène VII chez les sujets âgés. On notera que l'expression "fragilité cutanée" recouvre en particulier l'apparition de cloques au niveau sub-basal.

20 Enfin, il a été décrit par M. Akiyama et al. dans J. Invest. Dermatol. (1995) 105 844-850, que le collagène, en particulier le collagène VII, jouait un rôle important au niveau du follicule pileux humain, notamment au niveau des membranes basales de la matrice (zone péripapillaire) et au niveau de la membrane basale du bulge (renflement de la partie haute du bulbe). Ces deux zones contiennent des cellules à fort potentiel mitotique, en particulier des kératinocytes donnant naissance à la tige pileuse. Or, ces auteurs ont indiqué que le collagène VII présent dans le follicule est indispensable à l'expression de cette activité mitotique.

30 Les auteurs de la présente invention ont maintenant mis en évidence, de façon tout à fait surprenante, qu'un extrait de *Potentilla erecta* possédait un effet sur la sécrétion de collagène VII par les kératinocytes humains normaux.

Cette constatation a conduit à la mise au point de nouvelles compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques, plus particulièrement utiles dans toutes les applications où l'on cherche à stimuler la synthèse du collagène VII.

35 Cette propriété s'est avérée particulièrement utile pour l'élaboration de compositions topiques cosmétiques ou dermatologiques. De telles compositions

permettent, en particulier, de favoriser la cohésion entre le derme et l'épiderme chez les personnes présentant une peau atone ou relâchée. Elles se sont également avérées utiles pour les soins capillaires destinés à améliorer l'état de la chevelure. Elles permettent aussi de traiter les pathologies s'accompagnant d'une déficience
5 de la jonction dermo-épidermique, telle que l'épidermolyse bulleuse.

Ainsi, selon l'une de ses caractéristiques essentielles, l'invention concerne l'utilisation d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* comme agent cosmétique destiné à améliorer la cohésion entre le derme et l'épiderme par le renforcement de la jonction dermo-épidermique, ledit agent étant incorporé dans
10 une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

Il a été mis clairement en évidence que l'extrait incorporé dans la composition agit en stimulant la formation de collagène VII, ce qui constitue une autre caractéristique essentielle de l'invention.

Ainsi, les compositions de l'invention s'avèrent particulièrement utiles
15 dans toutes les applications où l'on cherche à améliorer la cohésion entre le derme et l'épiderme.

La composition sera en particulier destinée à obtenir un raffermissement de la peau, à prévenir ou à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, à retarder l'apparition des rides ou à diminuer leur
20 profondeur, à améliorer l'état de la chevelure.

Il pourra, en particulier, s'agir d'un produit anti-rides, d'un produit destiné à combattre le vieillissement cutané et le relâchement de la peau ou d'une lotion de soin capillaire.

Les compositions cosmétiques de l'invention s'avèrent particulière-
25 ment intéressantes pour lutter contre le vieillissement cutané, en particulier contre le vieillissement actinique de la peau, c'est-à-dire le vieillissement induit par les rayonnements, en particulier le rayonnement solaire, tout particulièrement le rayonnement solaire ultraviolet.

D'une façon générale, les compositions cosmétiques de l'invention
30 s'avèrent particulièrement utiles en tant que produit raffermissant de la peau destiné, en particulier, à lutter contre les peaux lâches ou atones.

Selon une autre de ses caractéristiques essentielles, l'invention concerne également l'utilisation d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* pour la préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique,
35 destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la cohésion entre le

derme et l'épiderme, en particulier celles liées à un affaiblissement de la jonction dermo-épidermique.

Les compositions pharmaceutiques, notamment dermatologiques de l'invention, trouveront en particulier une application dans le traitement des manifestations ou pathologies liées à une insuffisance de la formation du collagène VII.

A titre d'exemple de telles pathologies, on citera, en particulier, l'épidermolyse bulleuse.

Les compositions dermatologiques de l'invention pourront être également avantageusement utilisées comme composition cicatrisante dans le traitement des blessures, éventuellement en complément de traitements thérapeutiques locaux, en particulier pour améliorer la qualité de la peau pendant et après la cicatrisation.

Divers solvants pourront être employés pour obtenir l'extrait de la plante utilisé selon la présente invention. Toutefois, on choisira avantageusement l'eau, un alcool en C₁ à C₄, un glycol en C₂ à C₆, ou un mélange quelconque des solvants précités, en particulier un mélange hydroalcoolique ou hydroglycolique. Bien entendu, le solvant d'extraction est choisi de sorte qu'il soit liquide à température ordinaire, c'est-à-dire à 20-25°C.

L'eau sera le solvant d'extraction utilisé de préférence selon l'invention.

Parmi les alcools précités, on préfère tout particulièrement utiliser le méthanol ou l'éthanol. Parmi les glycols, on préfère utiliser l'éthylèneglycol, le propylèneglycol ou le butylèneglycol. On choisira avantageusement le butylèneglycol.

Dans les deux domaines d'applications cosmétique et pharmaceutique, notamment dermatologique, l'extrait de la plante *Potentilla erecta* sera avantageusement obtenu à partir du rhizome de cette plante.

Ainsi, selon une variante particulièrement avantageuse, on utilisera pour la préparation des compositions de l'invention un extrait aqueux de rhizome de *Potentilla erecta*.

Les compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques de l'invention, contiendront avantageusement de 0,0001 % à 5 %, de préférence entre 0,01 et 0,5 % en poids dudit extrait de *Potentilla erecta* par rapport au poids total de la composition.

Les compositions de l'invention pourront comprendre, en outre avantageusement, au moins une substance favorisant la synthèse des constituants de la matrice extracellulaire de la peau.

A titre d'exemple de telles substances, on citera les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A et C et leurs dérivés tels que les esters, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A acide, les extraits de centella asiatica, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de Siegesbeckia orientalis, les extraits de Commiphora mukul et les extraits d'Eriobotrya japonica.

Par ailleurs, la composition selon l'invention peut contenir, en outre, au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les alpha-hydroxy-acides aliphatiques en C₃-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide malique et l'acide lactique, les acides aminés, en particulier l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glycocéramides, les phospholipides, les agents amincissants, en particulier la forskoline, les extraits de Coleus, les extraits de Tephrosia, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de Ginkgo Biloba, et les filtres solaires, en particulier les oxydes de titane, le Parsol MCX et les filtres d'origine végétale.

Dans les compositions de l'invention plus particulièrement destinées au traitement et au soin des cheveux, l'extrait de la plante Potentilla erecta sera avantageusement associé à au moins un autre principe actif choisi parmi le groupe constitué par les agents anti-pelliculaires, tels que les extraits d'Arctium lappa, le chloroxylénol, le résorcinol ou la pyrithione de zinc, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5 α -réductase, en particulier un extrait de Pygeum africanum et les agents stimulant la microcirculation sanguine tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle.

Diverses formes de formulations peuvent être réalisées. Une des formes les plus utilisées est une forme topique adaptée pour être appliquée sur le tissu cutané. Ces formulations topiques appropriées incluent, sans limitation, des émulsions, des crèmes, des laits, des baumes, des gels, des lotions ainsi que des compositions de maquillage traitantes.

L'invention concerne également selon d'autres aspects un procédé de traitement cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, selon lequel on cherche à obtenir une amélioration de la jonction entre le derme et

l'épiderme, par un renforcement de la jonction dermo-épidermique, ou une stimulation de la synthèse du collagène VII.

Cet effet est obtenu selon l'invention en appliquant sur la partie du corps à traiter d'une quantité cosmétiquement, respectivement pharmaceu-
5 tiquement, efficace d'un extrait cosmétiquement, respectivement pharmaceu-
tiquement, efficace de *Potentilla erecta*, ledit extrait étant incorporé dans une composition comprenant un excipient cosmétiquement, respectivement pharmaceutiquement, acceptable.

Le procédé tel que défini précédemment permettra, en particulier,
10 d'obtenir un raffermissment de la peau, de prévenir ou retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, de retarder l'apparition des rides ou de diminuer leur profondeur.

Les compositions utilisées pour la mise en oeuvre de ce procédé sont celles précédemment définies.

15 Enfin, selon un dernier aspect, l'invention concerne également un procédé de traitement de cellules en culture, en particulier de kératinocytes humains ou de fibroblastes humains selon lequel on introduit une concentration efficace d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* pour obtenir une stimulation de la synthèse du collagène VII.

20 Suivant une variante préférée de mise en oeuvre de ce procédé, on introduit l'extrait précité à une concentration comprise entre 0,0001 % et 1 % en poids par rapport au poids total du milieu de culture.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaissent clairement à l'homme du métier, à partir de la description explicative qui va suivre
25 faite en référence à plusieurs exemples de réalisation donnés simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient en aucun cas limiter la portée de l'invention. Dans les exemples qui suivent, les pourcentages sont indiqués en poids, sauf indication contraire.

30 EXEMPLES

Exemple 1

Préparation d'un extrait méthanolique de rhizomes de *Potentilla erecta*

Une partie en poids de rhizomes de la plante est extraite trois fois de
35 suite avec 10 parties de méthanol portées à reflux pendant chaque fois 30 minutes. Tous les extraits sont regroupés après filtration.

On concentre ensuite l'extrait jusqu'à élimination totale du solvant. On récupère ainsi un produit sous forme d'extrait sec.

Exemple 2

5 Préparation d'un extrait de rhizomes de Potentilla erecta par extraction aqueuse

On utilise 50 g de rhizomes de la plante finement broyés et on réalise une extraction avec 500 ml d'eau portée à ébullition pendant 30 min. Après filtration sur grille de porosité 0,45 μ m, le résidu solide est extrait deux fois de suite dans les mêmes conditions que la première extraction, avec 500 ml d'eau.

10 Tous les extraits aqueux sont ensuite rassemblés puis lyophilisés. On obtient ainsi un extrait sec sous forme de poudre.

Exemple 3

15 Mise en évidence de la stimulation de la synthèse du collagène VII par un extrait aqueux de rhizomes de Potentilla erecta

Le test ci-dessous a été réalisé sur l'extrait aqueux sous forme de poudre lyophilisée, ci-après noté EA, obtenu selon le procédé décrit à l'exemple 2.

Les tests ont été réalisés en aveugle.

20 1 - Protocole du test

a) Provenance des kératinocytes :

Les cultures de kératinocytes humains normaux (KHN) sont établies à partir d'un prélèvement chirurgical de peau saine. Dans la présente étude, les tests
25 ont été réalisés sur une souche cellulaire provenant d'un lifting d'une femme caucasienne de 58 ans.

b) Conditions de culture :

Les kératinocytes sont maintenus dans le milieu SFM (Serum Free
30 Medium) complet (noté SFMc, GIBCO). Les cellules ont été sous-cultivées une fois à partir de la primoculture (soit un passage, noté P1).

c) Conditions de traitement :

L'ensemencement des cellules est réalisé en plaque de culture à
35 96 puits à raison de 30 000 KHN par puits dans le milieu SFMc. Après 24 h d'incubation nécessaire à la bonne adhérence des cellules, le milieu est remplacé

par un milieu SFMc dilué à 2 %, limitant la prolifération des kératinocytes. Les solutions-mère de produit obtenu selon l'exemple 2 (noté EA dans le tableau 1) sont préparées extemporanément dans le DMSO aux concentrations de 1 - 2,5 - 5 mg/ml et introduites dans le milieu d'étude à 0,1 % V/V final (soit les concentrations testées : 1 - 2,5 - 5 µg/ml). Le témoin reçoit l'excipient du produit, soit 0,1 % V/V de DMSO. Six cultures sont réalisées pour chacune des trois concentrations et pour l'essai témoin. Le test de viabilité XTT, ainsi que l'observation microscopique des cellules, n'ont pas révélé d'effets cytotoxiques du produit aux concentrations inférieures à 10 µg/ml. (Kit XTT BOEHRINGER, Réf. 1465015).

Les cellules sont mises au contact du milieu de traitement pendant 72 h, temps requis pour une synthèse optimale de collagène VII d'après une étude cinétique préalable.

Les surnageants d'incubation sont prélevés en vue du dosage du collagène VII sécrété. Un dosage des protéines est effectué sur le tapis cellulaire restant dans les puits (méthode BCA, SIGMA), dans le but de rapporter les quantités de collagène VII sécrétées aux taux de protéines cellulaires.

d) Dosage ELISA du collagène VII :

Le protocole de dosage du collagène VII par une méthode ELISA a été adapté à partir de celui utilisé pour le dosage du collagène I (M. DUMAS, C. CHAUDAGNE, F. BONTE, A. MEYBECK : "In vitro biosynthesis of type I and III collagens by human dermal fibroblasts from donors of increasing age", Mechanisms of Ageing and Development, 73 (1994) 179-187).

Les modifications suivantes ont été apportées :

- 1er anticorps : Anticorps monoclonal de souris anti-collagène type VII humain, isotype IgG1 (Life Technologies, Réf. 12073-011, Lot FB2b01).
- 2ème anticorps : Anticorps de chèvre anti-IgG totaux de souris, couplé à la phosphatase alcaline (Interchim, Réf. 115-056-062, Lot 26793).

e) Expression des résultats et interprétation statistique :

En l'absence de collagène de type VII humain commercialement disponible pour l'établissement d'une gamme-étalon, les résultats de la sécrétion de collagène VII par les kératinocytes sont exprimés en unités de densité optique, auxquelles on soustrait l'essai témoin du dosage (notées D.O. - Blanc). Ces valeurs sont ramenées au taux de protéines cellulaires du puits correspondant (pour 72 h d'incubation).

L'activité du produit est évaluée par le pourcentage de stimulation :
[(Collagène VII des KHN traités - Collagène VII des KHN témoins) /
Collagène VII des KHN témoins] x 100.

Les résultats obtenus sur les cultures traitées (n=6) et témoins (n=6)
5 sont comparés par le test de Student non apparié, le seuil de significativité retenu
étant $p < 0,05$.

L'activité du produit A sur le collagène VII a fait l'objet d'une
confirmation, sur la même souche de KHN.

10 Résultats - Conclusion

Les résultats sont donnés dans le tableau 1 ci-dessous, à partir de la moyenne des
mesures sur les différentes cultures :

TABLEAU 1

15 COLLAGENE VII RAPPORTE AU TAUX DE PROTEINES

Produits	Concen- trations	D.O. - Blanc collagène VII / 100 µg protéines/72 h	p (test t) par rapport au témoin	Significa- tivité
Témoin SFMc 2% + DMSO 0,1%	-	1,099+/-0,165		
EA	2,5 µg/ml	1,557+/-0,238	0,004	S (+42%)
EA	10 µg/ml	1,490+/-0,204	0,004	S (+36%)

N.S. : non significatif

S : significatif ($p < 0,05$)

20

Les résultats figurant au tableau 1 montrent une stimulation
importante de la synthèse du collagène VII par l'extrait aqueux de *Potentilla erecta*
avec des concentrations de 2.5 et 10µg/ml.

Ainsi, il ressort clairement que les extraits de *Potentilla erecta*
25 stimulent la formation de collagène VII. Cette protéine étant notamment le
constituant principal des fibrilles d'ancrage, ces extraits peuvent donc être
avantageusement utilisés comme agent pour renforcer la jonction dermo-
épidermique, et améliorer ainsi la cohésion entre le derme et l'épiderme.

Par ailleurs, il est connu, notamment de la publication de M. Akiyama citée plus haut, que le collagène VII est indispensable à l'expression de l'activité mitotique des kératinocytes des follicules pileux humains, d'où l'intérêt des extraits de *Potentilla erecta* pour l'amélioration de l'état de la chevelure.

5

Exemple 4

Mise en évidence de la stimulation de la synthèse de collagène VII par un extrait méthanolique de rhizomes de *Potentilla erecta*

10 Cette mise en évidence est réalisée avec un extrait méthanolique, noté ci-après "EM", obtenu selon le procédé décrit à l'exemple 1.

Le protocole expérimental utilisé est exactement le même que celui décrit à l'exemple précédent relatif au test avec l'extrait aqueux, si ce n'est que les kératinocytes humains normaux (KHN) utilisés cette fois-ci sont issus d'un prélèvement (lifting) sur une femme caucasienne de 56 ans.

15 Les résultats obtenus ont été reportés au tableau II ci-dessous, à partir de la moyenne des mesures sur les différentes cultures.

TABLEAU II
COLLAGENE VII RAPPORTE AU TAUX DE PROTEINES

20

Produits	Concentrations	D.O. - Blanc collagène VII / 100 µg protéines/72 h	p (test t) par rapport au témoin	Significativité
Témoin SFMc 2% + DMSO 0,1%	-	1,096+/-0,146		
EM	1 µg/ml	1,155+/-0,069	0,3987	N.S. (+5%)
EM	2,5 µg/ml	1,387+/-0,186	0,0138	S (+26%)
EM	5 µg/ml	1,422+/-0,199	0,0100	S (+30%)

N.S. : non significatif

S : significatif ($p < 0,05$)

25 Les résultats figurant au tableau II ci-dessus, montrent que les extraits méthanoliques selon l'invention présentent, à partir d'une certaine concentration, un effet très significatif de stimulation de la formation de collagène VII.

Ces résultats confirment les conclusions du test relatif aux extraits aqueux de l'exemple précédent, à savoir que les extraits de la plante *Potentilla*

erecta présentent un grand intérêt dans le renforcement de la jonction dermo-épidermique cutanée d'une part, et dans l'amélioration de l'état de la chevelure d'autre part.

5 Exemple 5

Composition de soin cosmétique contre le relâchement cutané :

Extrait méthanolique de rhizomes de Tormentille selon l'exemple 1 : 0.2 g

Extrait de Centella asiatica : 0,1 g

Vitamine C : 0,1 g

- 10 excipient émulsionné sous forme d'émulsion
huile-dans-eau, parfumé et conservateurs : qsp 100 g

Cette composition combat le relâchement de la peau, et restaure sa fermeté. Elle peut être avantageusement utilisée par cures de 3 semaines en
15 applications sur les zones du corps à traiter où la peau est relâchée.

Exemple 6

Préparation dermatologique gélifiée pour le traitement de l'épidermolyse bulleuse

Extrait méthanolique de rhizomes de Tormentille, selon l'exemple 1 : 0,5 g

- 20 carbopol 980® : 1,5 g
éthanol : 2,0 g
excipient aqueux : qsp 100 g

Cette préparation gélifiée devra être appliquée localement sur les
25 zones à traiter en cas d'épidermolyse, 3 fois par jour pendant au moins 15 jours.

Exemple 7

Emulsion dite anti-âge

Extrait méthanolique de rhizomes de Tormentille selon l'exemple 1 : 0,2 g

- 30 Palmitate de vitamine A : 0,08 g
Ascorbyl phosphate de magnésium : 2,0 g
Céramides de blé : 0,3 g
Excipient émulsionné fluide parfumé : qsp 100 g

35 Cette émulsion peut être utilisée sur les zones du corps à traiter, en particulier sur le visage, de préférence tous les soirs. Cette émulsion contribue à

retarder l'apparition des signes du vieillissement de la peau tels que les rides ou le relâchement cutané. Après un traitement quotidien de 6 mois environ, la peau devient plus lisse, plus souple et plus ferme. Elle reprend son éclat.

5 Exemple 8

Fond de teint traitant

Extrait aqueux de rhizomes de *Potentilla erecta* selon l'exemple 2 : 0,05 g

Poudre de Nylon SP500 : 2,0 g

Sérine : 0,1 g

10 Thréonine : 0,1 g

Ascorbyl phosphate de magnésium : 1,2 g

Madécassoside : 0,1 g

Excipients avec pigments et conservateurs : qsp 100 g

15 L'utilisation régulière de ce fond de teint contribuera à maintenir la peau en bon état et à lutter contre le vieillissement cutané.

Exemple 9

Poudre compacte pour le maquillage

20 Extrait méthanolique de *Potentilla erecta* selon l'exemple 1 : 0,08 g

Poudre Orgasol 2002 HD (Nylon) : 3,0 g

Acide lactique : 0,2 g

Excipient : qsp 100 g

25 Cette poudre compacte permet, tout en maquillant la peau, de retarder son vieillissement.

Exemple 10

Film occlusif pour le traitement des rides

30 Palmitate de vitamine A : 0,01 g

Extrait aqueux de *Potentilla erecta* selon l'exemple 2 : 0,05 g

Sel de magnésium de phosphate d'ascorbyle : 2,00 g

Protéines de blé : 10,00 g

Glycérol : 1,00 g

35 Excipients : qsp 100,00 g

Cette composition appliquée sur la peau forme, après évaporation de l'eau, un film à caractère occlusif, également désigné dans le langage professionnel par le terme "masque" ou encore par le terme anglais "patch". On applique de préférence cette composition le soir sur les zones de la peau à traiter, par exemple
5 au dessus des pommettes sur la zone des rides en forme de "patte d'oie". Le film traitant ainsi formé est laissé en place plusieurs heures. Après 15 jours de traitement quotidien, les ridules s'estompent très nettement. Le traitement est généralement conseillé par cures de 30 jours, 3 ou 4 fois par an.

10 Exemple 11

Lotion capillaire pour améliorer l'état de la chevelure et combattre la formation de pellicules

Extrait méthanolique de Potentilla erecta selon l'exemple 1 : 0,1 g

Chloroxylénol : 0,05 g

15 Cépharantine : 0,01 g

Excipient alcoolique parfumé : qsp 100,00 g

La lotion est utilisée par applications matin et soir sur le cuir chevelu, suivies d'un léger massage. Après 8 à 15 jours de traitement, les cheveux
20 retrouvent leur brillance et leur souplesse et les démangeaisons disparaissent. Les cures conseillées sont de 30 jours, espacées de 2 à 4 mois selon l'importance du problème capillaire à traiter.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* comme agent cosmétique destiné à améliorer la cohésion entre le derme et l'épiderme par le
5 renforcement de la jonction dermo-épidermique, ledit agent étant incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

2. Utilisation d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* comme agent cosmétique destiné à stimuler la formation de collagène VII, ledit agent étant
10 incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite composition est destinée à obtenir un raffermissment de la peau, à prévenir ou à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, à retarder l'apparition des rides ou à diminuer leur profondeur.

15 4. Utilisation selon la revendication 3, caractérisée en ce que le vieillissement cutané est le vieillissement actinique, dû en particulier à l'action du rayonnement solaire.

5. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit agent est destiné à améliorer l'état de la chevelure.

20 6. Utilisation d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* pour la préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la cohésion entre le derme et l'épiderme, en particulier celles liées à un affaiblissement de la jonction dermo-épidermique.

25 7. Utilisation d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* pour la préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les manifestations ou les pathologies liées à une insuffisance de la formation du collagène VII.

30 8. Utilisation selon la revendication 6 ou 7, caractérisée en ce que ladite composition est destinée au traitement de l'épidermolyse bulleuse.

9. Utilisation selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisée en ce que ladite composition est destinée au traitement des blessures en vue d'améliorer leur cicatrisation, éventuellement en complément de traitements thérapeutiques locaux, en particulier pour améliorer la qualité de la peau pendant et après la
35 cicatrisation.

10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que ledit extrait est obtenu par extraction à l'aide d'un solvant choisi dans le groupe constitué par l'eau, un alcool en C₁-C₄, un glycol en C₂-C₆ ou un mélange quelconque des solvants précités, en particulier un mélange hydroalcoolique ou hydroglycolique.

11. Utilisation selon la revendication 10, caractérisée en ce que ledit solvant est l'eau.

12. Utilisation selon la revendication 10, caractérisée en ce que ledit alcool est le méthanol ou l'éthanol.

13. Utilisation selon la revendication 10, caractérisée en ce que ledit glycol choisi dans le groupe constitué par l'éthylèneglycol, le propylèneglycol et le butylèneglycol.

14. Utilisation selon la revendication 13, caractérisée en ce que ledit extrait est obtenu par extraction avec le butylèneglycol.

15. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que ledit extrait est obtenu à partir des rhizomes de la plante.

16. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisée en ce que ladite composition contient de 0,0001 % à 5 % et de préférence entre 0,01 % et 0,5 % en poids dudit extrait par rapport au poids total de ladite composition.

17. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que ladite composition contient en outre au moins une substance favorisant la synthèse des constituants de la matrice extracellulaire de la peau.

18. Utilisation selon la revendication 17, caractérisée en ce que ladite substance est choisie parmi le groupe constitué par les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A et C et leurs dérivés tels que les esters, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A acide, les extraits de centella asiatica, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de Siegesbeckia orientalis, les extraits de Commiphora mukul et les extraits d'Eriobotrya japonica.

19. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 18, caractérisée en ce que ladite composition contient en outre au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les alpha-hydroxy-acides aliphatiques en C₃-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide malique et l'acide lactique, les acides aminés, en particulier l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glyco-céramides, les phospholipides, les agents amincissants, en particulier la forskoline,

les extraits de Coleus, les extraits de Tephrosia, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de Ginkgo Biloba, et les filtres solaires, en particulier les oxydes de titane, le Parsol MCX et les
5 filtres d'origine végétale.

20. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 19, caractérisée en ce que ladite composition contient en outre au moins un autre principe actif choisi parmi le groupe constitué par les agents anti-pelliculaires, tels que les extraits d'*Arctium lappa*, le chloroxylénol, le résorcinol ou la pyrithione de zinc, les agents
10 anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5 α -réductase, en particulier un extrait de *Pygeum africanum*, et les agents stimulant la microcirculation sanguine, tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle.

21. Procédé de traitement cosmétique destiné à obtenir une amélioration de la jonction entre le derme et l'épiderme par un renforcement de la
15 jonction dermo-épidermique ou à stimuler la formation de collagène VII, caractérisé en ce qu'il consiste à appliquer une quantité cosmétiquement efficace d'un extrait de la plante *Potentilla erecta*, ledit extrait étant contenu dans une composition comprenant un excipient cosmétiquement acceptable.

22. Procédé de traitement cosmétique selon la revendication 21, caractérisé en ce qu'il consiste à appliquer une quantité cosmétiquement efficace
20 d'un extrait de la plante *Potentilla erecta* pour obtenir un raffermissement de la peau, prévenir ou retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, retarder l'apparition des rides ou diminuer leur profondeur, ledit extrait étant contenu dans une composition comprenant un excipient cosmétiquement acceptable.

23. Procédé de traitement de cellules en culture, en particulier de kératinocytes humains ou de fibroblastes humains, caractérisé en ce qu'il consiste à introduire dans ledit milieu de culture une concentration efficace d'un extrait de
25 la plante *Potentilla erecta* pour obtenir une stimulation de la synthèse du collagène VII.

24. Procédé selon la revendication 23, caractérisé en ce que l'on introduit l'extrait précité à une concentration comprise entre 0,0001 % et 1 % en poids par rapport au poids total dudit milieu de culture.
30



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 7/48, 7/06, 35/78, C12N 5/00	A3	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/19664 (43) Date de publication internationale: 14 mai 1998 (14.05.98)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/01988 (22) Date de dépôt international: 6 novembre 1997 (06.11.97) (30) Données relatives à la priorité: 96/13585 7 novembre 1996 (07.11.96) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LVMH RECHERCHE [FR/FR]; 25, rue des Peupliers, F-92752 Nanterre (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BONTE, Frédéric [FR/FR]; 54, rue Trudelle, F-45100 Orléans (FR). DUMAS, Marc [FR/FR]; 61 résidence le Windsor, 47 ter, avenue de la Mouillère, F-45100 Orléans (FR). CHAUDAGNE, Catherine [FR/FR]; 4, rue des Mésanges, F-45530 Vitry-aux-Loges (FR). MEYBECK, Alain [FR/FR]; Les Poissons, 20 ter, rue de Bezons, F-92400 Courbevoie (FR). (74) Mandataires: GIRAUD, Françoise etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75007 Paris (FR).		(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i> (88) Date de publication du rapport de recherche internationale: 13 août 1998 (13.08.98)
(54) Title: USE OF A POTENTILLA ERECTA EXTRACT IN THE COSMETIC AND PHARMACEUTICAL FIELD (54) Titre: UTILISATION D'UN EXTRAIT DE POTENTILLA ERECTA DANS LE DOMAINE DE LA COSMETIQUE ET DE LA PHARMACIE (57) Abstract The invention concerns the use of an extract of Potentilla erecta in the cosmetic and pharmaceutical field, in particular in dermatology. It concerns more particularly all the applications seeking to reinforce the dermo-epidermic junction or to improve hair condition, by improving the synthesis of collagen VII by keratinocytes and/or fibroblasts. Particularly, these applications concern the strengthening of the skin, the reduction of wrinkles or hair care. The invention also concerns a novel method of cell culture, in particular of human fibroblasts or keratinocytes, for promoting the formation of collagen VII. (57) Abrégé L'invention concerne l'utilisation d'un extrait de la plante Potentilla erecta dans le domaine de la cosmétique et de la pharmacie, notamment de la dermatologie. Elle concerne plus particulièrement toutes les applications où l'on cherche à renforcer la jonction dermo-épidermique ou améliorer l'état de la chevelure, par l'amélioration de la synthèse du collagène VII par les kératinocytes et/ou les fibroblastes. En particulier, ces applications concernent le raffermissement de la peau, l'atténuation des rides ou le soin de la chevelure. L'invention concerne également un nouveau procédé de culture de cellules, en particulier de fibroblastes ou de kératinocytes humains, pour favoriser la formation de collagène VII.		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte. Application No
PCT/FR 97/01988

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K7/48 A61K7/06 A61K35/78 C12N5/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A61K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	FR 2 734 478 A (BERKEM SOCIATA ANONYME) 29 November 1996 see page 1, line 19 - line 35 see page 3, line 34 - page 4, line 3 see claims 1-11	1-4,6-8, 11-17,22
X	--- FUHRMANN: "Pflanzenextrakte für kosmetische Präparate" SEIFEN-ÖLE-FETTE-WACHSE, vol. 115, no. 2, 1989, AUGSBURG, DE, pages 38-40, XP000027104 page 38, alinea "Adstringierende wirkung " *	1-4,6-8, 11-17,22
X	--- STN, Database server, XP002033781 Karlsruhe, de, file Embase, AN=95338953 abstract --- -/--	1-4,6-8, 11-17,22

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 February 1998

Date of mailing of the international search report

23.06.98

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

FISCHER, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Application No.

PCT/FR 97/01988

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 95, no. 006 (C & JP 07 061916 A (SANSHO SEIYAKU CO) see abstract ---	1-4,22
A	"Verwendung von Herbasol-Extrakten in der Kosmetik" SEIFE-ÖLE-FETTE WACHSE, vol. 107, no. 20, 1981, AUGSBURG, DE, pages 623-625, XP002033780 see the whole document ---	1-22
A	DATABASE WPI Week 8813 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 88-086587 XP002033782 & HU 44 165 A (VADSZ) see abstract ---	1-22
A	DATABASE WPI Week 9139 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 91-284717 XP002033783 & JP 03 188 008 A (SHISEIDO) see abstract ---	1-22
E	EP 0 810 222 A (BERKEM) 3 December 1997 see the whole document -----	1-4,6-8, 10-18, 21,22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT /FR 97/01988

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

subject 1: claims 1-22
subject 2: claims 23-24

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-22

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/01988

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2734478 A	29-11-96	NONE	
EP 810222 A	03-12-97	FR 2749303 A	05-12-97
		CA 2202297 A	30-11-97
		JP 10045611 A	17-02-98

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Don internationale No
PCT/FR 97/01988

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 A61K7/48 A61K7/06 A61K35/78 C12N5/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K C12N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X,P	FR 2 734 478 A (BERKEM SOCIATA ANONYME) 29 novembre 1996 voir page 1, ligne 19 - ligne 35 voir page 3, ligne 34 - page 4, ligne 3 voir revendications 1-11 ---	1-4,6-8, 11-17,22
X	FUHRMANN: "Pflanzenextrakte für kosmetische Präparate" SEIFEN-ÖLE-FETTE-WACHSE, vol. 115, no. 2, 1989, AUGSBURG, DE, pages 38-40, XP000027104 * page 38, paragraphe " Adstringierende wirkung " *	1-4,6-8, 11-17,22
X	STN, Serveur de Bases de Données, XP002033781 Karlsruhe, de, Fichier Embase, AN=95338953 * résumé *	1-4,6-8, 11-17,22

	-/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

24 février 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

23.06.98

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

FISCHER, J

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Den 3 Internationale No
PCT/FR 97/01988

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 95, no. 006 (C & JP 07 061916 A (SANSO SEIYAKU CO) voir abrégé ---	1-4,22
A	"Verwendung von Herbasol-Extrakten in der Kosmetik" SEIFE-ÖLE-FETTE WACHSE, vol. 107, no. 20, 1981, AUGSBURG, DE, pages 623-625, XP002033780 voir le document en entier ---	1-22
A	DATABASE WPI Week 8813 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 88-086587 XP002033782 & HU 44 165 A (VADSZ) voir abrégé ---	1-22
A	DATABASE WPI Week 9139 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 91-284717 XP002033783 & JP 03 188 008 A (SHISEIDO) voir abrégé ---	1-22
E	EP 0 810 222 A (BERKEM) 3 décembre 1997 voir le document en entier -----	1-4,6-8, 10-18, 21,22

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR 97/01988

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os}
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☐ Les revendications n^{os}
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

3. ☐ Les revendications n^{os}
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

Sujet 1: Revendications 1-22

Sujet 2: Revendications 23-24

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}

4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est
1-22

Remarque quant à la réserve

☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem. Internationale No

PCT/FR 97/01988

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2734478 A	29-11-96	AUCUN	
EP 810222 A	03-12-97	FR 2749303 A	05-12-97
		CA 2202297 A	30-11-97
		JP 10045611 A	17-02-98